หัวข้อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาตัวพาอนุภาคนาโนไขมันที่บรรจุสารสกัดดอกดาวเรือง เพื่อยับยั้งฤทธิ์เอนไซม์ไทโรซิเนส	
ผู้เขียน	นางสาวทักษอร รัตนยุวัน	
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เภสัชกรรม)	
คณะกรรมการที่ปรึกษา	ผศ. ดร. อำไพ พฤติวรพงศ์กุล	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
	รศ. พิมพร ลีลาพรพิสิฐ	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีเป้าหมายเพื่อพัฒนาอนุภาคนาโนไขมันที่บรรจุสารสกัดดอกดาวเรืองที่มีสารเพิ่มผิวขาว โดยนำผงดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta*) แห้งมาสกัดต่อเนื่องโดยชุดเครื่องมือซอกเลตด้วยตัวทำละลายเฮกเซน, เอทิลอะซิเตท และเอทานอล 95% ตามลำดับ จนได้สารสกัดหยาบเฮกเซน (HE, ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 4.45±0.16), สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท (EE, ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 10.26±1.03) และสารสกัดหยาบเอทานอล (AE, ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 23.83±1.76) โดยที่สารสกัดหยาบ EE มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด (287.93±0.19 mg RE/ g of dry extract) และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงที่สุด (IC_{50}=261.20±1.03 µg/ml) จึงเลือกสารสกัดหยาบ EE ไปแยกต่อด้วยเทคนิค Vacuum Column Chromatography (VCC) ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์แบบไล่ขั้ว (100% hexane ถึง 30% MeOH/EtOAc) ได้สารสกัดย่อย 14 fractions คือ F1 ถึง F14 และพบว่า สารสกัดย่อย F8 มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงที่สุด (475.56±0.38 mg RE/g of dry extract) แสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสที่สูงที่สุด (IC_{50}=50.73±0.56 µg/ml) ซึ่งมีฤทธิ์ดีกว่า beta-arbutin 10.57 เท่า, วิตามินซี 1.66 เท่า,สารสกัดทับทิม 3.25 เท่า, patulatin 1.87 เท่า, quercetagetin 1.40 เท่า และสารสกัดหยาบ EE 5.15 เท่า ในการพัฒนาตำรับอนุภาคนาโนไขมันจึงเลือกสารสกัดหยาบ EE และสารสกัด F8 ไปบรรจุในอนุภาคนาโนไขมันชนิด Nanostructured Lipid Carrier (NLC) ที่พัฒนาโดยเทคนิคการปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันที่ความดันสูง แบบใช้อุณหภูมิสูง โดยเลือกตำรับ NLC เปล่าที่ดีที่สุด 2 ตำรับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คือ ตำรับ A และ B ซึ่งสามารถบรรจุสารสกัดหยาบ EE และ F8 ได้ 1.0%w/w และ 0.2%w/w ตามลำดับ ตำรับ A และ B ที่กักเก็บสารสกัดดังกล่าวที่พัฒนาได้ มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยในช่วง 125-150 nm ค่าการกระจายขนาดอนุภาคโดยเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.19-0.22 ค่าศักย์ไฟฟ้าซีต้าโดยเฉลี่ยอยู่ในช่วง –19.46 mV ถึง – 26.68 mV และให้ประสิทธิภาพการกักเก็บโดยเฉลี่ยอยู่ในช่วง 76.55-88.10% นอกจากนี้ ตำรับตัวพาอนุภาคนาโนไขมันแข็งชนิด NLC ที่พัฒนาขึ้นได้นี้ เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายสารสกัดใน PEG 400 พบว่า สามารถเพิ่มความคงตัวทางเคมีให้แก่ quercetagetin ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในสารสกัดที่นำมากักเก็บในตำรับ NLC และยังคงทำให้สารสกัดที่กักเก็บมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ในทุกสภาวะการทดสอบ ซึ่งได้แก่ สภาวะ Heating – Cooling cycle 6 รอบ และการเก็บที่สภาวะอุณหภูมิต่ำ 4ºC, อุณหภูมิสูง 45ºC, อุณหภูมิห้องที่มีแสงและอุณหภูมิห้องที่ไร้แสง และเมื่อนำตำรับที่พัฒนาได้ไปทดสอบการปลดปล่อยด้วย Franz diffusion cell พบว่า สารสกัดหยาบ EE 1.0% และสารสกัด F8 0.2**%** ที่ถูกกักเก็บไว้ทั้งในตำรับ A และ B สามารถถูกปลดปล่อยออกจากอนุภาค NLC แพร่ผ่านเซลลูโลสเมมเบรนลงมายัง receptor chamber ได้ โดยตัวพาอนุภาคนาโนไขมันแข็งชนิด NLC ที่พัฒนาได้เป็นรูปแบบเมทริกซ์ ซึ่งมีการปลดปล่อยอย่างฉับพลันในระยะแรกหรือในชั่วโมงที่ 1-12 และในระยะหลังหรือในชั่วโมงที่ 12-24 มีการปลดปล่อยแบบออกฤทธิ์เนิ่น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title	Development of Nanostructured Lipid Carrier Loaded with Marigold Flower Extract for Inhibiting Tyrosinase Activity	
Author	Miss Thaksa-on Rattanayuwan	
Degree	Master of Science (Pharmaceutical Sciences)	
Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Ampai Phrutivorapongkul	Advisor
	Assoc. Prof. Pimporn Leelapornpisid	Co-advisor

ABSTRACT

The purpose of this study was to develop nanostructured lipid carrier (NLC) loaded with whitening agent from marigold flowers (*Tagetes erecta*). The dried flowers were powdered and extracted by Soxhlet's apparatus with *n*-hexane, ethyl acetate and ethanol, respectively to obtain hexane extract (HE, %yield = 4.45±0.16), ethyl acetate extract (EE, %yield = 10.26±1.03) and ethanol extract (AE, %yield = 22.83±1.76). This study showed that EE had the highest total flavonoid content (287.93±0.19 mg RE/g of dry extract) and the highest anti-tyrosinase inhibitory activity (IC_{50}=261.20±1.03 µg/ml) among all crude extracts. The EE was chosen to continuously separate by Vacuum Column Chromatography (VCC) technique with gradient elution (100% hexane to 30% MeOH/EtOAc) to obtain 14 fractions (F1 to F14). The fraction 8 (F8) showed the highest flavonoid content (475.56±0.38 mgRE/g of dry extract) and the highest mushroom tyrosinase inhibitory activity (IC_{50}= 50.73±0.56 µg/ml) when compared with other fractions. F8 showed mushroom tyrosinase inhibitory activity more than the reference substances: beta-arbutin 10.57 times, vitamin C 1.66 times, pomegranate extract 3.25 times, patulatin 1.87 times, quercetagetin 1.40 times and the EE 5.15 times. The EE and F8 were then selected to develop into

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

the Nanostructured Lipid Carriers (NLC) by the hot high pressure homogenization technique. The two of NLC base namely A and B formulas were the most suitable for further development. The 1.0%w/w of EE and the 0.2%w/w of F8 were loaded into both of A and B formulas. All loaded NLCs had_the average of particle size during 125-150 nm, the average of poly-dispersion index during 0.19-0.22, the average of Zeta-potential -19.46 to -26.68 mV and the average % entrapment during 76.55-88.10%. Moreover, all loaded NLCs could enhanced the chemical stability of quercetagetin, the main compound contained in the marigold flower extracts, and also remained the tyrosinase inhibitory activity after stored in heating-cooling cycles (6 cycles) and 3 months at 4ºC, 45 ºC, light-room temperature (LRT) and dark-room temperature (DRT) conditions. Franz diffusion cell was used for release study and found that the entrapped extract in NLCs could be well released from NLCs. This releasing pattern was matrix from as the initiation (at first 12 hrs) was burst release and after that (at 12-24 hrs) was sustained manner.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved